

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND

Keemia instituut

Piret Selli

**MDI MÄÄRAMINE EHITUSVAHTUDES HPLC/UV
MEETODIGA**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendaja: Anneli Kruve, PhD

Tartu 2015

Kasutatud lühendid

2-PP	1-(2-puridüül)peperasiin
AOAC International	Rahvusvaheline Ametlik Põllumajandus Keemikute Assotsatsioon
CEN	Euroopa Standardiseerimise Komitee
DBA	n-dibutüülamiin
DCM	diklorometaan
FEICA	<i>Association of the European Adhesive & Sealant Industry</i>
FL	fluorestsents detektor
GC	gaasikromatograafia
GPC	geelkromatograafia
HDI	heksametüleen diisotsüanaat
HPLC	kõrgefektiivne vedelikkromatograafia
ISO	Rahvusvaheline Standardiorganisatsioon
LoD	avastamiskiir, (<i>limit of detection</i>)
MAMA	9-(metüülaminometüül)antrantseen
MAP	1-(9- antratsenüülmetüül)piperasiin
MeCN	atseetonitril
MDI	difenüülmetaan diisotsüanaat
MOPP	1-(2-metoksüfenüül)piperasiin
MS	massispektromeetria
MS/MS	tandem-massispektromeetria

NBMA	N-bensüülmetüülamiin
PMDI	polümeerne MDI
RMSE	ruutkeskmine suhteline jääkliige
SPS	<i>Solvent Purifier System</i>
TDI	tolueen diisotsüanaat
THF	tetrahüdrofuraan
UV-Vis	ultraviolet-nähtav spektroskoopia

Sisukord

Kasutatud lühendid	2
Sissejuhatus.....	6
1 Kirjanduslik ülevaade	7
1.1 MDI keemilised omadused.....	7
1.2 MDI ehitusvahtudes	7
1.3 MDI tootmine	8
1.4 Isotsüanaatide mõju keskkonnale ja inimestele	8
1.5 Derivatiseerimine	8
1.5.1 Derivatiseerivad reagentid	9
1.6 Määramise meetodid	9
1.6.1 Detektorid	10
1.7 Valideerimine	10
1.7.1 Avastamiskiir	11
1.7.2 Mõõtemääramatus ja täpsus.....	11
1.7.3 Kordustäpsus.....	12
1.7.4 Lineaarne ala.....	12
1.7.5 Võrdlusemõõtmised.....	12
1.8 Vedelikkromatograafia.....	13
2 Materjal ja meetodika	14
2.1 Kasutatud ained.....	14
2.2 Kalibreerimislahuste valmistamine	14
2.3 Aparatuur.....	15
2.4 Meetodika.....	16
2.4.1 Prepolümeeri meetod	16
2.4.2 Vahu meetod	16
3 Tulemused ja järeldused	18
3.1 Erinevad lahustid.....	18
3.1.1 Diklorometaan ja tetrahüdrofuraan SPS	18

3.1.2	Tetrahüdrofuraan SPS meetodil puhastatud ja molekulaarsõeltel olev tetrahüdrofuraan	20
3.2	Korduvus	21
3.3	Korratavus	23
3.4	Laboritevahelised võrdlusmõõtmised	23
3.5	Avastamispiir	26
3.6	Õhuniiskuse mõju MDI-le.....	27
	Kokkuvõte.....	29
	Summary	30
	Kasutatud kirjanduse loetelu.....	31
	Lisa	33

Sissejuhatus

Difenüülmetaan diisotsüanaat (MDI) on üks polüuretaanvahtude koostisosa. Eestis tuntakse polüuretaanvahte eelkõige Makroflexi nime all, kuigi tegelikult on tegemist vaid ühe tootjafirmaga. Peamiselt puutuvad MDI-ga kokku ehitustöölised, kes paigaldavad uksi, aknaid või teostavaid muid ehitustöid. Paljudest läbiviidud uuringutest on täheldatud, et MDI võib põhjustada näiteks astmat või bronhiiti. Lisaks moodustavad diisotsüanaadid valkude ja DNA-ga komplekse, mis võivad esile kutsuda mutatsioone. Kõike eelnevat arvesse võttes on väga oluline määrata MDI kindlat kontsentratsiooni vahtudes. Ka tootjad on hakanud järjest rohkem tähelepanu pöörama MDI sisalduse vähendamisele vahtudes ning on välja tulnud uute nn roheliste vahtudega (*green foams*), kus on 99% vähem MDI-d.

Tartu Ülikooli Katsekojas on olemas HPLC/UV instrument ja meetod, mis võimaldavad määrata MDI kontsentratsiooni erinevates proovides. Kuna hetkel pole Euroopa Liidus ühtegi ametlikku juhendit, mille järgi MDI määrata, siis püstitati töö eesmärgiks määrata MDI sisaldust kasutades erinevaid soovituslikke meetodeid, neid kohandada vastavalt vajadusele ning võrrelda meetodite eeliseid ning puudusi. Eesmärgi täitmiseks oli vajalik meetod valideerida, mille käigus määrati korduvus, korratavus ja LoD ja osaleti laboritevahelisel võrdlusmõõtmisel.

1 Kirjanduse ülevaade

1.1 MDI keemilised omadused

Difenüülmetaan diisotsüanaat (MDI) on kasutusel kui üldlevinud aine nimi. Tehnilises kasutuses olev MDI on polümeerse MDI (PMDI) vormis, mis on segu 25-80%-lisest monomeersest 4,4'-MDI-st, 3- kuni 6-lülilistest oligomeeridest ja muudest vähemtähtsatest isomeeridest. PMDI täpse koostise määrab tootja. [1]

4,4'-MDI on valge või helekollane aine, mis on toatemperatuuril tahke, kuid sulab 39 kuni 43 °C juures ning tema keemistemperatuur on üle 300 °C. Kuna monomeerne MDI on mittepolaarne, siis ei lahustu ta hästi vees. Headeks lahustiteks on oktaan, benseen ja kerosiin. [1]

MDI-d kasutatakse polüuretaansete elastomeeride, näiteks sünteetilise naha, kummist kingataldade või isolaatorite, valmistamisel. PMDI-st tehakse tahkeid ja painduvaid ehitusvahte, soojust isoleerivaid materjale ja palju muud. [1, 2]

1.2 MDI ehitusvahtudes

Orgaanilisi diisotsüanaate kasutatakse ulatuslikult sisetöödeks mõeldud polüuretaanvahtude tootmisel, kus üheks oluliseks monomeerseks komponendiks on MDI. Lisaks MDI-le võivad vahud monomeersel kujul sisaldada ka tolueen diisotsüanaati (TDI) ja heksametüleen diisotsüanaati (HDI). [3]

MDI-d toodetakse üle 5 miljoni tonni aastas. Peamiseks tootjaks on saksa firma Bayer. Kõik suuremad tootjafirmad on ka Rahvusvahelise Isotsüanaadi Instituudi liikmed, seega on tagatud aine ohutu käitlemine. [4]

Suurem osa MDI kogutoodangust kulub tahkete ehitusvahtude tootmiseks. Ehitusvahud on head isolaatorid ning seetõttu kasutatakse neid näiteks külmikute ehitusel, kuid ka akende ja uste paigaldusel. 4,4'-MDI isomeerist saab samuti tööstuslikku tugevat liimi. [5]

1.3 MDI tootmine

MDI-d on võimalik saada aniliini ja formaldehüüdi reaktsioonil. Katalüsaatorina kasutatakse soolhapet, et saada diamiin, millest edasi töödeldakse produkti fosgeeniga ning lõpptulemusena saadakse MDI. Aniliini ja formaldehüüdi reaktsioon on järgmine:



Isotsüanaadid on väga reaktsioonivõimelised ühendid, reageerides nii hapniku kui veega. Kuna õhus leidub mõlemat, siis ei ole hea tsüanaatidega töötada tavalistes laboritingimustes. Ühendi reaktsioonivõimet mõjutab ka rühmade ruumiline paiknemine. 4,4'-MDI isomeer on kolm korda reaktsioonivõimelisem vee ja hapnikuga kui 2,4'-MDI isomeer just tänu steerilistele efektidele. [6]

1.4 Isotsüanaatide mõju keskkonnale ja inimestele

Isotsüanaadid on tervisele ohtlikud, eriti sagedasel või pikemaajalisel kokkupuutel, põhjustades näiteks astmat, kuid selle tekkemehhanism on veel ebaselge. Lisaks on suurendatud oht saada bronhiaalastmat, bronhiiti või kopsupõletikku. Diisotsüanaadid ja diamiinid võivad moodustada komplekse mitte ainult valkude, vaid ka DNA-ga, kutsudes esile mutatsioone. Uuringud on kinnitanud, et MDI ja TDI võivad põhjustada loomadel vähki. [7]

Looduskeskkonnas isotsüanaate iseeneslikult ei teki. Isotsüanaadid reageerivad hästi vee ja ka amiinidega. TDI reageerib veega küllaltki kiiresti, MDI-l seevastu kulub rohkem aega, kuna tema lahus on viskoossem. Vette sattudes moodustub MDI-st tahke polükarbamiid, mis sadestub, ja tenamfetamiin. Aja vältel laguneb polükarbamiid süsinikdioksiidiks ja seetõttu keskkonnale erilist ohtu ei kujuta. [8]

Tavatingumustes esineb inimestel kokkupuudet MDI-ga harva. Varasemalt eeldati, et MDI võib akumulieruda organismi läbi veeandide toiduahela, kuid praeguseks on tõestatud, et see on väga ebatõenäoline. [1]

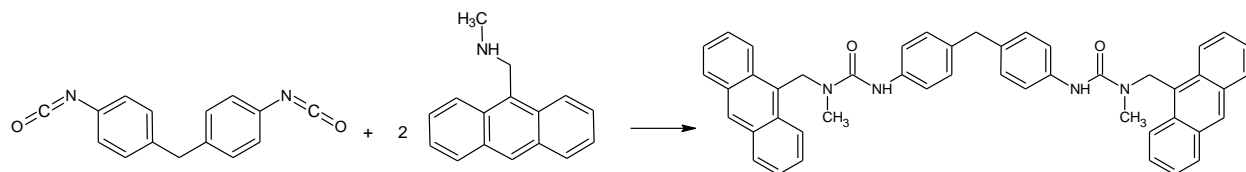
1.5 Derivatiseerimine

Derivatiseerimine on üks proovi ettevalmistuse etapp, mille tulemusena paraneb analüüdi analüüsivõime. Tavaliselt viiakse analüüdiga läbi liitumisreaktsioon, mille käigus liitub funktsionaalrühm teise spetsiifilise rühmaga. Saadakse analüüsiks paremate omadustega ühend

ehk derivaat. Derivatiseerimise eesmärk on üldjuhul parandada selektiivsust või detekteeritavust. Sageli kasutatakse derivatiseerivate reagentidena ultraviolet-nähtavat (UV-Vis) kiirgust neelavaid või fluorestseeruvaid ühendeid, mis sisaldavad aromaatsid tuumasid või konjugeeritud π -sidet. Kasutatakse peamiselt nukleofiilseid liitumisreaktsioone, millega muudetakse kogu analüüt fluorestseeruvaks või valgust neelavaks, mis võimaldab detekteerimist ultraviolet (UV) või fluorestsents (FL) detektoriga. Protsessi juures on oluline silmas pidada, et reaktsioon toimuks ühes suunas ning derivaat oleks stabiilne. [9]

1.5.1 Derivatiseerivad reagentid

Isotsüanaatide analüüs põhineb valdavalt derivatiseerimisel erinevate nukleofiilidega, milleks on primaarsed või sekundaarsed alifaatsed amiinid, mõnikord ka alkoholid. Algselt olid kasutuses peamiselt alkoholid, kuid need asendati aromaatsete ühenditega. Amiinidest on kasutusel näiteks 1-(2-metoksüfenüül)piperasiin (MOPP), 1-(9-antratsenüülmetüül)piperasiin (MAP), n-dibutüülamiin (DBA), 1-(2-puridüül)peperasiin (2-PP), N-bensüülmetüülamiin (NBMA) ja 9-(metüülaminometüül)antratseen (MAMA). Kõige kasutatavam nendest on MAMA tänu oma suurele reaktsioonivõimele, mis tuleneb steerilistest omadustest. Viimased uuringud on leidnud, et NBMA on isegi reaktiivsem kui MAMA. NBMA-l on üks aromaatsne tuum, MAMA-l kolm. [8,10]



Joonis 1. MDI ja MAMA reaktsioon.

1.6 Määramise meetodid

Kõige laialdasemalt kasutatakse MDI uurimiseks vedelik- ja gaasikromatograafia meetodeid. Gaasikromatograafiaga (GC) saab aineid hästi eraldada, kuid isotsüanaadid on halvasti lenduvad ning võivad laguneda kõrge temperatuuri juures. Vedelikkromatograafial (HPLC) põhinevate meetodite puhul on vajalik MDI derivatiseerida kas alkoholi või amiiniga, et stabiliseerida ühend, muuta ta UV alas valgust neelavaks või fluoretseeruvaks ja takistada edasist polümeriseerumist. Lisaks eelpool mainitutele on kasutusel ka geelkromatograafia (GPC). See on teostuse poolest kõige lihtsam, kuna ei vaja derivatiseerimist ega suuremat proovi ettevalmistust,

kuna kasutatakse murdumisnäitaja detektorit. See tehnika ei võimalda eraldada MDI kolme isomeeri ja teisi sarnase molekulmassiga derivaate. Kirjanduses puudub nüüdisaegsete MDI määramise meetodite võrdlus. [10]

1.6.1 Detektorid

Peamiselt on kasutusel UV, elektrokeemiline, FL, ja massi spektromeetiline (MS) detektor. Samuti on võimalik näiteks kasutada tandem MS-i (MS/MS). Aromaatsete reagentidega derivatiseeritud MDI-d on võimalik määrata UV või FL detektoriga, kui saadud derivaadid fluorestseeruvad. Juhul kui ühendis pole aromaatsust ega konjugeeritud kaksiksidet, eelistatakse kasutada MS detektorit. Kuna UV ja FL detektorid on vähespetsiifilised, siis peab eelnev kromatograafiline piikide lahutus olema väga hea, vastasel juhul on oht valepositiivsete tulemuste saamiseks. MS/MS puhul on valepositiivsete tulemuste oht väiksem. [10]

1.7 Valideerimine

Valideerimine on protsess, mille tulemusel hinnatakse metoodika vastavust eesmärgile. Meetodi valideerimine teostatakse, et demonstreerida meetodi sobilikkust. Samuti selgitakse välja, millised tegurid ning kuidas võivad mõjutada tulemusi. Meetodi valideerimise käigus määratakse meetodi karakteristikud, millest sagedasemad on lineaarsus, madalaim detekteerimispiir ja määramispiir, robustsus, selektiivsus, tundlikkus, tööala, kordustäpsus ja tõesus. Kui mõnda parameetrit pole võimalik täpselt määrata, siis antakse selle kohta üldine hinnang. [11, 12]

Karakteristikute määramiseks on tarvis analüüsida erinevaid proove, näiteks puhtaid reagente või analüüdivabu maatrikseid, aga ka rikastatud proove, kuhu on analüüti kindlas koguses juurde lisatud. Saadavatest tulemustest on võimalik hinnata, kuidas ja mis määral mõjutavad proovi komponendid analüüdi määramist. [12]

Valideerimist on tarvis meetodi usaldusväärsuse ja sobivuse hindamiseks. Pärast katsete läbiviimist peavad saadud tulemused olema kõigile lihtsasti mõistetavad, korrektsed ja usaldusväärsed, et nende põhjal oleks võimalik teha kindlaid järeldusi. [11]

Valideerimist on võimalik teostada kas laborisiseselt või laboritevaheliselt. Laboritevahelist valideerimist kasutatakse, kui meetod on arendatud mitme labori poolt, sellel on suur kasutusala või standardiseeritud töövõtted. Juhul kui meetod on sellisel kujul kasutuses vaid ühes laboris, teostatakse ka valideerimine laborisiseselt. Alati ei ole tarvilik läbi viia

täisvalideerimist, st kõigi võimalike karakteristikute määramist, vaid võib piirduda antud meetodi seisukohast oluliste karakteristikute määramisega. Kui meetodi väljatöötamise ja valideerimise on teinud Rahvusvaheline Standardiorganisatsioon (ISO), Euroopa Standardiseerimise Komitee (CEN) või Rahvusvaheline Ametlik Põllumajanduskeemikute Assotsiatsioon (AOAC International) siis piisab meetodi osalisest valideerimisest. See vähendab oluliselt laborite enda töökoormust. [11, 12]

1.7.1 Avastamispäär

Avastamispäär (LoD) on vähim analüüdi sisaldus, mida on võimalik detekteerida. Oluline on vahet teha instrumendi ja meetodi avastamispääril. Instrumendi avastamispäär põhineb analüüdita proovi mõõtmisel või signaali-müra suhtel. LoD mõõtmisel tuleks kasutada samu proove ja töövõtteid kui tavapärase mõõtmisprotsessi ajal. Proovide arv võiks jääda 6 ja 15 vahele, soovituslik on tavaliselt 10 proovi. Arvutuslikult on avastamispääri võimalik määrata kui müra kolmekordset standardhälvet. Müra standardhälve peaks olema määratud kordustäpsuse mõõtmise käigus väga madalatel sisaldustel. Seejuures leitakse avastamispäär vastavalt valemile 1. [11, 12]

$$LoD=3S_0 \quad (1)$$

Kromatograafiliste neelduvuste puhul on LoD võimalik määrata visuaalselt kui madalaim analüüdi kontsentratsioon, mille juures on kromatogrammil visuaalselt detekteeritav piik.

Eriti oluline on avastamispäär meetodikate puhul, millega mõõdetakse kahjulike või ohtlike ainete sisaldust kas keskkonnas, toidus või veres. Kuna LoD on väga tundlik tingimuste (meetodi, keskkonna, aga ka proovi koostise seisukohast) muutustele, siis on väga raske määrata täpset väärtust ja seetõttu antakse tavaliselt üldine hinnang, mis piirist alates muutub detekteerimine problemaatiliseks. [12]

1.7.2 Mõõtemääramatus ja täpsus

Mõõtemääramatus on parameeter, mis iseloomustab väärtuste hajumist. Määramatus koosneb nii juhuslikest kui ka süstemaatilistest efektidest ja on tavaliselt vaadeldav ühe valideerimisparameetrina. Nende efektide hinnangud saadakse sageli valideerimise käigus kordustäpsuse ja tõesuse hindamisel. Valideerimise käigus kontrollitakse meetodi määramatuse sobilikkust. [13, 14]

1.7.3 Kordustäpsus

Kordustäpsus on meetodiga saadud tulemuste omavaheline kokkulangevus. Määratakse tavalist tulemuste varieeruvust, mitte minimaalset varieeruvust. Täpsus jaguneb omakorda korduvuseks ja korratavuseks. Korduvus hindab meetodi võimet lühikese aja jooksul anda kokkulangevaid tulemusi, katsed peavad olema läbi viidud samades tingimustes ja samade inimeste poolt. Kui eksperimendid on teostatud pikema ajaperioodi vältel või erinevates laboritingimustes erinevate inimeste poolt, on tegemist korratavusega. [12,13]

Korduvuse määramine peab kajastama ka kogu eelnevat proovi ettevalmistust ja paralleelkatsete arv peaks olema optimaalne (6 kuni 15). Kui mõõdetav kontsentratsioon ületab avastamispiiri, siis avaldatakse tulemus siiski suhtelise standardhälbena, kuna eeldatakse, et korduvused proportsioneeruvad uuritavas kontsentratsioonide vahemikus. [11]

1.7.4 Lineaarne ala

Lineaarset ala on võimalik määrata kalibreerimisgraafiku lineaarse regressiooni jääkliikmete kaudu. Iga kõrvalekalle sirgest võib viidata lineaarsuse puudumisele. Mõnikord on tegemist lihtsalt juhusliku veaga, kuid sama tulemuse kordumisel ei pruugi graafik olla lineaarne ja sel juhul ei tohiks seda kasutada. Selle jaoks tuleb kalibreerimisgraafiku koostamisel jälgida, et erinevaid mõõdetavaid kontsentratsioone oleks vähemalt kuus, mis oleksid jaotunud ühtlaselt üle terve uuritava ala. Lisaks tuleks mõõtmised teostada juhuslikus järjekorras vähemalt kahes paralleelis. [12]

1.7.5 Võrdlusmõõtmised

Võrdlusmõõtmised on laboritevahelised mõõtmised, kus analüüsitakse etteantud aja jooksul kindlaid proove, kuid kasutatav aparatuur ja töövõtted on reeglina iga labori enda valida. Tavaliselt määratakse ühe või mitme kindla ühendi sisaldust ning seejärel esitatakse tulemused. Hiljem, kui kõik laborid on tulemused saatnud, on võimalik võrrelda määratud sisaldusi ja mõõtmise täpsust ning teha järeldusi, kas ja kuidas oma meetodit korrigeerida või muuta. Võrdlusmõõtmisi viiakse läbi peamiselt kolmel eesmärgil. Esiteks, meetodi valideerimiseks, mis teostatakse nt CEN-i standardite järgi. Tulemustest saadavat täpsust saab hiljem kasutada mõõtemääramatuse hindamiseks. Teiseks, referentsproovi valideerimiseks. Kõik laborid esitavad oma tulemused, millest saab pärast järeldada kui täpselt määrati analüüdi sisaldust. Juhul kui analüüdi sisaldus pole varasemalt teada, siis on võimalik tulemuste põhjal anda hinnang

kontsentratsioonile. Kolmandaks, hinnata labori enda sooritusvõimet. Lisaks saab teadmisi, mis instrumente ja meetodeid kasutavad teised laborid sarnaste proovide testimiseks. Võrdlusmõõtmistel osalemine on laboritele vabatahtlik. [15]

1.8 Vedelikkromatograafia

Vedelikkromatograafia on tänapäeval kõige laialdasemalt kasutatav ainete eraldamise tehnika. Metoodika on populaarne, kuna on kõrge tundlikkusega, kergesti automatiseeritav, võimaldab kvantitatiivset analüüsi ja temaga on võimalik eraldada mittelenduvaid ühendeid. [16]

Tänapäeval on analüütilise kolonni osakeste täidise osakeste suurus keskmiselt 3 kuni 10 μm , kolonni sisediaameeter 3 kuni 5 mm, pikkus 5 kuni 25 cm ja eluendi voolukiiruseks 0,1 kuni 1 ml/min. Kasutatavaid eluente degaseeritakse eelnevalt. Selle protsessiga eemaldatakse mittelahustunud gaasid, mullid ja tolmu, mis mõjutavad detektori tundlikkust. Alati pole tarvis eluente degaseerida, mõnikord piisab lihtsalt vaakumfiltreerimisest, mis täidab sama eesmärgi. Pump on vajalik rõhu tekitamiseks, eluendi voolukiiruse hoidmiseks ja gradientelueerimiseks. Gradientelueerimisel segatakse omavahel kaht või enam solventi ajas muutuv vahekorras. Sisestatav proovikogus jääb vahemikku mõni kümnendik μl kuni 500 μl . Ühtegi spetsiifilist detektorit vedelikkromatograafias ei ole, seetõttu kasutatakse traditsioonilisi analüütilisi instrumente. Küll aga peaks detektor olema minimaalse surnud ruumalaga ja ei tohiks olla tundlik kasutatavatele solventidele. [16]

2 Materjal ja metoodika

2.1 Kasutatud ained

Mobiilfaasi valmistamiseks kasutati atseetonitriili (MeCN) (Sigma-Aldrich, USA, puhtus $\geq 99,9\%$) ja standardpuhverlahust. Puhverlahus valmistatakse ammooniumatsetaadist (Sigma-Aldrich, Holland, puhtus $\geq 99\%$), sipelghapest (Sigma-Aldrich, Saksamaa, puhtus $\geq 98\%$) ja ülipuhtast veest, lahuse pH=2,65, (5 mM)

Derivatiseeriva reagentina kasutati 9-(metüülaminometüül)antrantseeni (MAMA) (Sigma-Aldrich, USA, puhtus 99%) ja MDI standardainena 4,4'-metüleenbis(fenüülsotsüanaati) (Aldrich, Saksamaa, puhtus 98%). Kogu töö vältel määrati 4,4'-MDI, kuna teiste isomeeride standardaineid pole usaldusväärse puhtusega saadaval.

Vahu proovideks olid Penosil Premium Foam (Krimelte OÜ, Eesti) ja Makroflex (Markoflex Henkel AS, Eesti).

Proovi ettevalmistuse käigus kasutati tetrahüdrofuraani (THF) (Romil stabilisaatoriteta, Suurbritannia, puhtus $>99,9\%$, veesisaldus $<0,005\%$; täiendavalt puhastatud kasutades *Solvent Purifier System* (SPS) seadet, Vac Atmospheres Co), stabiliseerimata veevaba molekulaarsõeltel THF (Romil, Suurbritannia, puhtus $>99,9\%$, sertifikaadis toodud KFT veesisaldus 0,0021%) ja diklorometaan (DCM) (J. T Baker, Holland, puhtus $\geq 99,8\%$, destilleeritud CaH_2).

Karl Fischeri tiitrimise reagentiks oli Hydranal- Coulomat AG (Fluka Analytical, Saksamaa).

Kanistrist ja kolvist õhu väljatõrjumiseks kasutati lämmastikku, mis on saadud veeldatud lämmastikust- High Tech 5.0 (AS Eesti AGA, Eesti, hapniku sisaldus ≤ 3 ppm, veesisaldus ≤ 3 ppm).

2.2 Kalibreerimislahuste valmistamine

Kalibreerimisgraafiku emalahuseks kasutati 1% MAMA lahust ja 0,1% MDI lahust. Derivatiseerimise reaktsioonil on ühe MDI molekuli kohta tarvis kaht MAMA molekuli. Kõige kindlam on lisada MAMA lahust piisavas ülehulgas, milleks antud töös kasutati kaks korda

suuremat kogust, kui oli võetud MDI lahust. Kalibreerimislahused valmistati emalahuse lahjendamise teel.

2.3 Aparatuur

Proovide analüüsimiseks kasutati HPLC/UV-Vis instrumenti firmalt Agilent. Vedelikkromatograaf Agilent 1200 koosnes järgnevatest osadest: automaatne proovisisestussüsteem, analüütiline kolonn, solventide degasaator, pump, UV-Vis detektor. UV-Vis detektori mõõtmisulatus on 200 kuni 700 nm. Töös teostati mõõtmised kahel erineval lainepikkusel 254 nm ja 360 nm. Analüütiliseks kolonniks oli Agilent Eclipse XDB-C18 pikkusega 250 mm, sisediameetriga 4,6 mm ja täidisosakese suurusega 5 µm. Vedelikkromatograafia meetodis kasutati gradientelueerimiseks ammooniumatsetaadi ja sipelghappe puhverlahust, pH=2,65 (standardpuhver) ning MeCN. Grandiendi pikkuseks oli 30 minutit ja selle jooksul suurenes MeCN osakaal 50%-lt 100%-le ning tagasi 50%-le. Täpsem ülevaade on toodud tabelis 1.

Tabel 1. Eluentide osakaalu muutused gradientelueerimisel.

Aeg [min]	0	20	22	25	30
MeCN [%]	50	100	100	50	50

Standardlahuste ja võrdlusemõõtmise proovide ettevalmistus teostati MBraun UNIlab-tüüpi kuivkapis. Mineraalklaasist valmistatud akent läbis kolm butüülkautšukist kinnast, mille abil oli kuivkapis võimalik katseid teha. Kinnaste kasutamise juures on oluline neid mitte vigastada teravate esemetega. Kuivkapis kasutatakse inertse atmosfäärina argooni, puhtusega vähemalt 99,993%. Gaas tsirkuleeris pidevalt läbi puhastite, mille käigus eemaldati aktiivsõe filtrite abil tolm ja lenduvad orgaanilised ühendid, veeaur seoti molekulaarsõelte ning hapnik aktiveeritud vase abil. Gaasi puhtust analüüsisid hapniku sensor Oxygen Probe MB-OX-SE-1 ja niiskuse sensor Moisture Probe MB-MO-SE-1, mis kuvasid näidud kuivkapi juhtpaneelile. Mõõtmiste ajal oli nii hapniku kui ka niiskuse sisaldus enamasti <0,1 ppm.

Erineva mahuga automaatpipetid pärinesid firmalt Eppendorf (Saksamaa). Proovide segamiseks kasutati segajat Eppendorf MixMate (Saksamaa). Karl Fischeri tiitrimine teostati titraatoril Mettler Toledo DL32 (USA).

2.4 Metoodika

MDI määramiseks on kasutusel palju erinevaid prooviettevalmistuse meetodeid, kuid praegusel hetkel pole neist ükski ametlikult Euroopa Liidu poolt kinnitatud. Ehitusvahtude tootja Soudal on andnud välja kaks soovituslikku meetodit, mida on võimalik kohandada vastavalt vajadusele. Nendeks on prepolümeeri ja vahu meetodid. Prepolümeeri meetodi puhul degaseeritakse proov enne analüüsi, vahu meetodil analüüsitakse proovi degaseerimiseta. [17]

2.4.1 Prepolümeeri meetod

Prepolümeeri meetodil lastakse balloonist vähemalt 100 g homogeniseeritud vahtu polüetüleenist kanistrisse, mis asetatakse 50 °C ahju. Aeg-ajalt proovi raputatakse ning avatakse kork degaseerimiseks. Kanistrist väljuvateks gaasideks on propellandid, isobutaan ja isopentaan, mida kasutatakse, et vaht balloonist välja tuleks. Raputamist jätkatakse seni, kuni proovist enam gaase ei eraldu. Degaseerimine võtab aega umbes ööpäev. Oluline on jälgida, et õhuniiskuse ei satuks kanistrisse, kuna see võib reageerida proovis oleva MDI-ga. Seejärel kaalutakse umbes 40 mg proovi suletavasse topsi ja lisatakse 10 ml lahustit. Lahustina kasutatakse tetrahüdrofuraani ja tolueni segu, kus tolueni kontsentratsioon on 3 g/l. Proovil lastakse vähemalt 30 minutit lahustuda ja filtreeritakse 25 mm läbimõõduga polütetrafluoroetüleen filtril, mille poori suurus on 0,2 µm. Selle tulemusena eraldatakse mittelahustuvad ühendid, mis võivad ummistada kolonni. [17]

2.4.1.1 Töös kasutatud prepolümeeri meetod

Prepolümeeri meetodit kasutades vähendati proovi kogust 100 grammilt umbes poole võrra 40 kuni 50 grammini. Vahuga kanistrit hoiti 40 °C ahjus paar tunni. Iga paarikümne minuti tagant proovi degaseeriti. Edasiseks analüüsiks võeti proovid viiest erinevast kanistrist keskmiselt massiga 0,4 g ning lahustati 10 ml THF-s. Proovi võtmine kanistrist teostati lämmastiku voolus, et vähendada õhuniiskuse mõju analüüsitulemustele. Seejärel proov derivatiseeriti kasutades MAMA lahust. Proovidel lasti reageerida pool tundi ning analüüsiti seejärel vedelik-kromatograafiliselt. Filtreerimine teostati vastavalt vajadusele.

2.4.2 Vahu meetod

Ligikaudu 4 g homogeniseeritud vahtu lastakse pudelist 100 ml suletavasse Erlenmeyeri kolbi, kus lahustina on 50 ml THF ja tolueni segu. Tolueni kontsentratsioon on 3 g/l. Proovi täpse massi saab määrata vahupudeli kaalumise teel enne ja pärast vahu väljalaskmist. Vaht

lahustatakse 15 minuti jooksul pidevalt segades, pärast mida lahjendatakse proovi 20 korda ning filtreeritakse. Filter ning filtreerimise eesmärk on sama, mis prepolümeeri meetodi puhul. [17]

2.4.2.1 Töös kasutatud vahu meetod

Vahu meetodil vähendati solvendi kogust Soudali juhendis soovitatud 50 ml-lt 20 ml-ni. Vahupudelist lasti lahustisse vahtu ligikaudu 8 g, mis lahustus koheselt. Vahu laskmine lahustisse teostati lämmastiku voolus, et vältida proovi kokkupuudet õhuniiskusega. Proovidest tehti kümne- ja sajakordsed lahjendused, lahjendused derivatiseeriti, segati pool tundi ja analüüsiti vedelik-kromatograafiliselt.

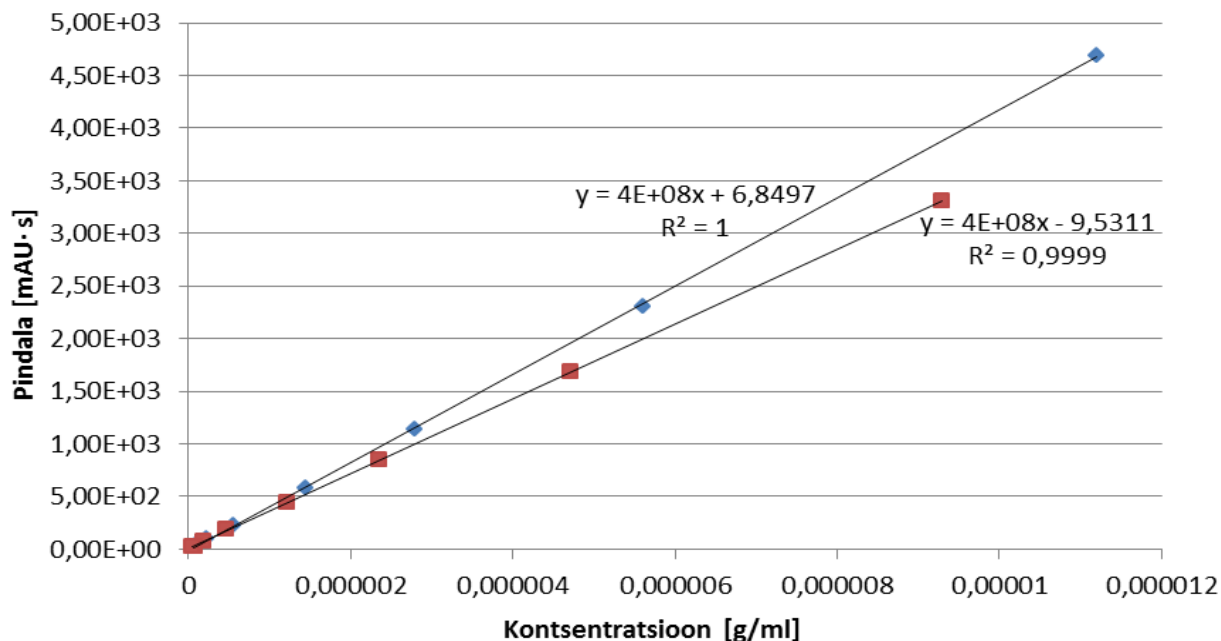
3 Tulemused ja järeldused

3.1 Erinevad lahustid

MDI on mittepolaarne ühend, seega lahustub hästi vähepolaarsetes lahustites. Analüüsitavate proovide lahustamiseks on võimalik kasutada väga palju erinevaid lahusteid, kuid ükski neist pole ideaalne. Laialdaselt on kasutusel näiteks DCM, THF, MeCN ja dimetüülformamiid. Töös uuriti, kas ja kuidas mõjutavad erinevad solvendid MDI lahustumist ja analüüsi. Samuti võrreldi erineva päritoluga THF mõju analüüsitulemustele. Selleks koostati kalibreerimisgraafikud kontsentratsioonide vahemikus ligikaudu $1,1 \cdot 10^{-5}$ kuni $5,5 \cdot 10^{-8}$ g/ml.

3.1.1 Diklorometaan ja tetrahüdrofuraan SPS

Kalibreerimisgraafikud on koostatud kaheksa punktiga, mis asuvad enam-vähem lineaarselt. Nii THF kui ka DCM kalibreerimisgraafikute tõusud on lähedased, aga THF tõus on keskmiselt natuke suurem (DCM $4,30 \cdot 10^8 \pm 5,85 \cdot 10^6$ mAU·s·ml/g ja THF $4,39 \cdot 10^8 \pm 4,10 \cdot 10^6$ mAU·s·ml/g). Suhteline standardhälve on THF-l samuti väiksem ja tulemused usaldusväärsemad. Keskmise tõusude suhe on $0,97 \pm 0,08$, seega tõusud statistiliselt oluliselt ei erine.



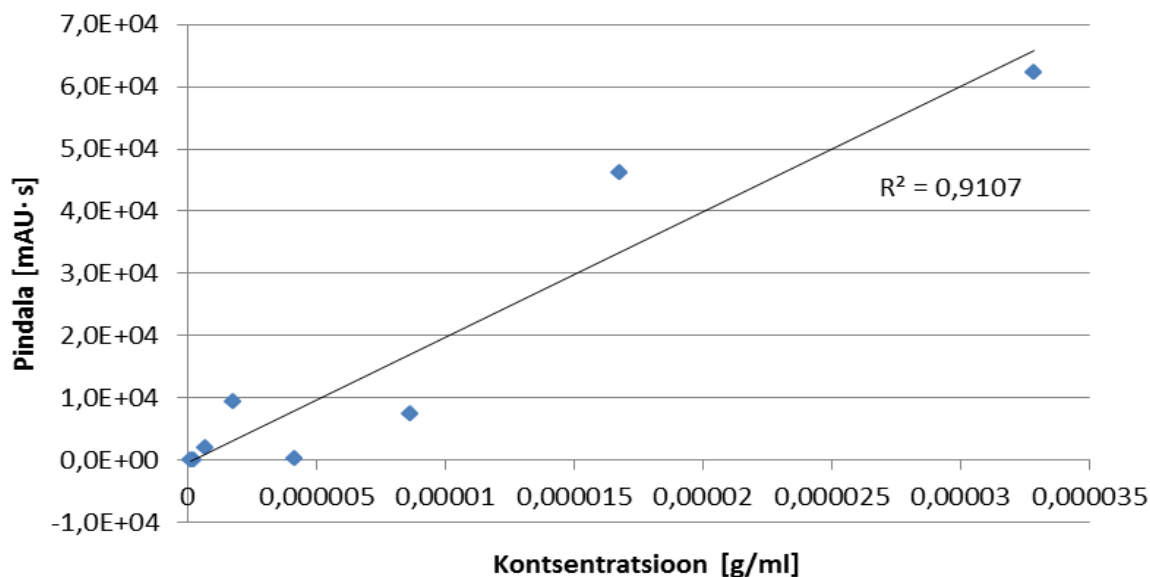
Joonis 2. Kalibreerimisgraafik THF ja DCM. Sinine tähistab THF ja punane DCM.

Visuaalsel vaatlusel lahustus MDI standardaine THF-s paremini kui DCM-s. Lahustumisprobleemide tõttu esines DCM kasutamisel ka kalibreerimisgraafiku anomaaliaid (Joonis 3), kus mõõdetud punktide tulemused kaldusid lineaarsusest oluliselt kõrvale. Seejuures võib sirge R^2 olla ikkagi küllaltki hea (0,91), kuna graafik on koostatud üle mitme suurusjärgu. Punktide kõrvalekaldumist sirgest iseloomustab suhteline jääkliige. Kontsentratsioonid, suhtelised jääkliikmed ja ruutkeskmine suhteline jääkliige (RMSE) on toodud alljärgnevas tabelis 2.

Tabel 2. DCM kalibreerimisgraafiku jääkliikmete väärtused, katse tehtud 10. märts 2014.

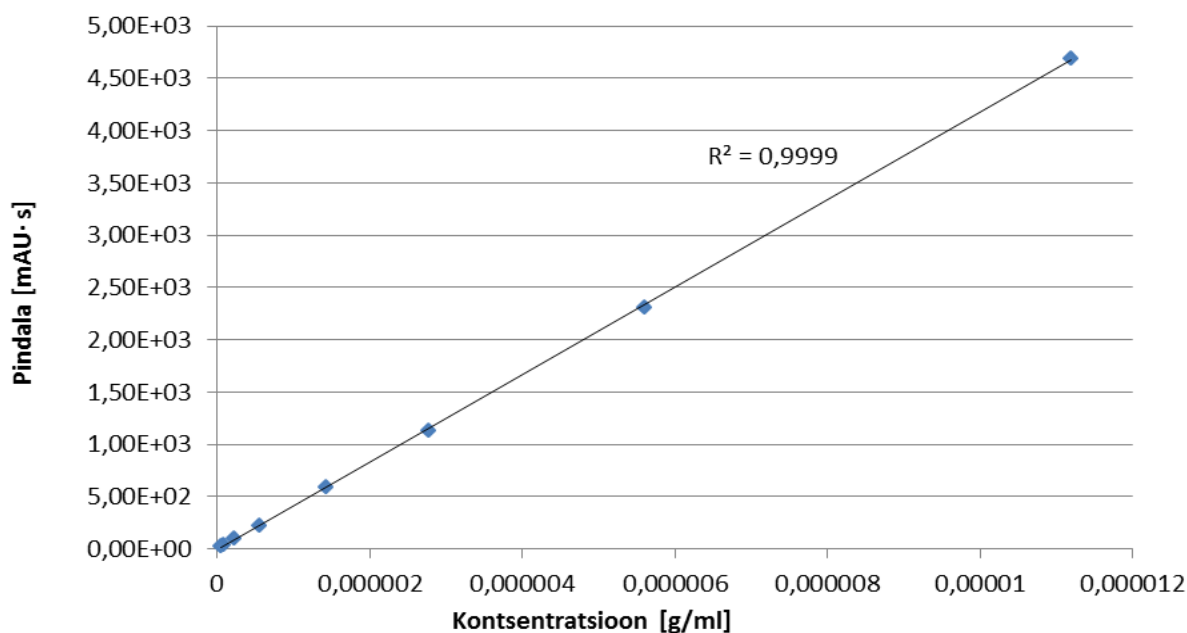
Kontsentratsioon [g/ml]	3,28E-05	1,68E-05	8,63E-06	4,14E-06	1,77E-06	6,65E-07	2,41E-07	1,29E-07
Jääkliige [mAU·s]	-3,52E+03	1,29E+04	-9,45E+03	-7,62E+03	6,34E+03	1,16E+03	-1,95E+01	1,96E+02
Suhteline jääkliige [%]	-0,1	0,3	-1,3	-28,1	0,7	0,6	-1,0	18,9
RMSE [%]	12,0							

Madalatel kontsentratsioonidel on suhteline jääkliige suur, millest võib eeldada, et graafik ei pruugi olla enam lineaarne. Ruutkeskmine suhteline jääkliige on samuti 12% ja mõõtmistulemused pole seetõttu enam usaldusväärsed.



Joonis 3. DCM kalibreerimisgraafiku anomaalia. Katse tehtud 10. märts 2014.

Suhtelised jääkliikmed, kasutades THF lahustina (kalibreerimisgraafiku näide toodud Joonisel 4), on keskmiselt üks suurusjärg madalamad (Tabel 3) kui DCM kasutamisel saadud. Samuti on ruutkeskmise suhteline jääkliige märgatavalt väiksem. (DCM 12,0% ja THF 0,19%). Käesoleva meetodiga töötamiseks on kindlasti eelistatud lahustina THF.



Joonis 4. THF kalibreerimisgraafik. Katse tehtud 23. oktoober 2014.

Tabel 3. THF kalibreerimisgraafiku jääkliikmete väärtused. Katse tehtud 23. oktoober 2014.

Kontsentratsioon [g/ml]	1,12E-05	5,60E-06	2,78E-06	1,44E-06	5,53E-07	2,26E-07	8,82E-08	5,55E-08
Jääkliige [mAU·s]	1,99E+01	-2,88E+01	-2,06E+01	-7,79E+00	5,70E+00	8,88E+00	1,23E+01	1,04E+01
Suhteline jääkliige [%]	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,4
RMSE [%]	0,2							

3.1.2 Tetrahüdrofuraan SPS meetodil puhastatud ja molekulaarsõeltel olev tetrahüdrofuraan

Kahe erineva päritolu THF võrdlusel kasutati kalibreerimisgraafiku meetodit, kus graafik on koostatud samuti kaheksa punktiga. Kõik punktid asuvad lineaarses alas, R^2 väärtus on ligikaudu 0,99. Küll aga on SPS meetodil puhastatud THF kasutamisel saadud kalibreerimisgraafiku tõus suurem kui molekulaarsõeltel oleva solvendi oma. Keskmise tõus molekulaarsõeltel oleval THF $2,21 \cdot 10^7 \pm 5,39 \cdot 10^5$ mAU·s·ml/g ja SPS meetodil saadud THF $3,44 \cdot 10^7 \pm 8,05 \cdot 10^5$ mAU·s·ml/g. Tõusude suhe on keskmiselt $1,69 \pm 0,49$.

Karl Fischeri tiitrimise meetodiga määratud veesisaldused on molekulaarsõltel THF 77,2 ppm. Koheselt SPS võetud solventi veesisalduseks on määratud 1,7 kuni 2,4 ppm.

Proovide ettevalmistusel kasutusel olnud molekulaarsõltel oleva THF-ga täheldati pärast kromatograafilist analüüsi, et 4,4'-MDI polnud maatriksi piikidest hästi lahutunud. Gradientelueerimisega suureneb orgaanilise solventi osakaal ajas ning MDI elueerub kui orgaanilise solventi osakaal on tõusnud 100%-ni. SPS puhastatud THF kasutamisel oli proovide analüüsimisel kromatograafiline lahutus parem.

3.2 Korduvus

Korduvust määrati purgivahu analüüsile nii prepolümeeri kui ka vahu meetodi jaoks. Selleks kohandati Soudali etteantud juhendit.

Vahu meetodi suureks eeliseks on kiire teostus, aeganõudva degaseerimisprotsessi puudumine, samuti pole proovi tarvis eraldi lahustada. Küll aga kulub palju lahustit, mis aurustub ja seetõttu pole võimalik kindlat massi ega lahuse kontsentratsiooni määrata.

Prepolümeeri meetodi korral on solventi kulu väiksem, kuna proovikogus on väiksem. Algne proovi mass on suurem kui vahu meetodil ja ahjus toimub proovi täiendav homogeniseerumine. Vahu degaseerimine annab täpsema massi, kuna vahu meetodis on proovi massi sisse arvestatud ka gaaside mass, mida on tarvis vahupudelist vahu väljalaskmiseks. Samas on suurem tõenäosus MDI kokkupuuteks õhuga, sest degaseerimise protsessis avatakse kanistri kork.

Mõlemat meetodit püütakse muuta keskkonnasõbralikumaks vähendades nii proovi kui ka lahusti kogust. Prepolümeeri meetodis kasutatakse polüetüleenist valmistatud kanistrit, mis pärast kasutust visatakse ära, kuid ilma kanistrita pole võimalik katset läbi viia. Mõlemad meetodid teostatakse lämmastikuvoorus, mis juba ise sisaldab väheses koguses vett (alla 3 ppm) ja seetõttu võib reageerida MDI-ga ning mõjutada tulemusi.

Prepolümeeri meetodit kasutades vähendati proovi kogust 100 g-lt 50 g-ni. Kanister koos vahuga pandi 40 °C ahju ning teostati degaseerimine paari tunni vältel. Seejärel võeti edasiseks analüüsiks proovid viiest erinevast kanistrist keskmiselt massiga 0,4 g ning lahustati 10 ml THF-s. Proovi võtmine kanistrist teostati lämmastiku voorus. Seejärel proov derivatiseeriti, kasutades

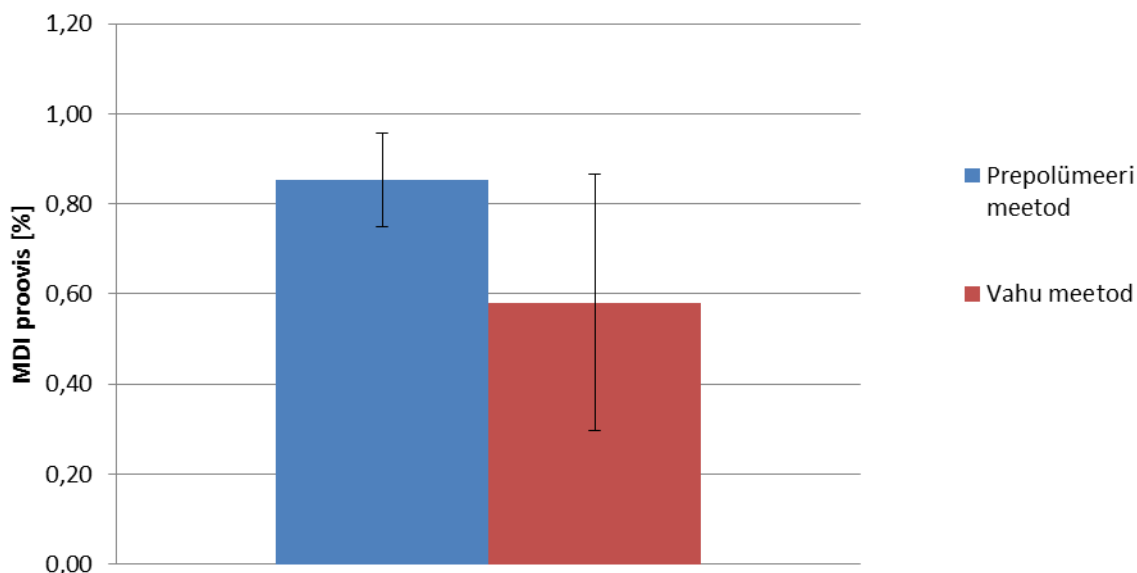
1% MAMA lahust. Proovidel lasti reageerida pool tundi ning analüüsiti seejärel vedelik-kromatograafiliselt.

Vahu meetodil vähendati solventi kogust Soudali juhendis soovitatud 50 ml-lt 20 ml-ni. Vahupudelid lasti lahustitesse vahtu 8 g, mis lahustus koheselt. Vahu laskmine lahustisse teostati samuti lämmastiku voolus. Proovidest tehti kümne- ja sajakordsed lahjendused, lahjendused derivatiseeriti ja segati pool tundi ning analüüsiti vedelik-kromatograafiliselt.

Prepolümeeri ja vahu meetodi korduvused, väljendatuna suhtelise standardhälvetena, saadi vastavalt 12,1% ja 49,0%. Märgatavalt parema tulemuse andis prepolümeeri meetod, kuna proovi kuumutamise käigus toimub degaseerimine ja vahu koostise homogeniseerimine.

Vahu meetodi puhul oli tulemuste kokkulangevus väga kehv. Vahu meetodi suurimaks probleemiks on THF väga kiire aurumine proovi lisamise käigus. Iga proovi ettevalmistamiseks kulub paratamatult natuke erinev aeg, siis pole ka võimalik kindlaks teha aurunud lahusti hulka. Vahupudelit loksutatakse enne vahu väljalaskmist, kuid sellegi poolest ei pruugi proov olla nii homogeenne kui prepolümeeri meetodi puhul. On väidetud, et MDI kontsentratsioon pole vähese homogeniseerimise pärast drastiliselt erinev, kuid täpsusmõõtmise juures on see siiski piisavalt oluline faktor. [17] Kuna katse on teostatud ainult lämmastikuvoolu all, mis ei ole absoluutselt vee- ja hapnikuvaba keskkond, siis kindlasti reageeris osa MDI-st juba õhuniiskusega. Lisaks on lahuses teadmata kogus lahustunud gaase, kuna proovi ei degaseerita eelnevalt.

Katset korrati vahu meetodil kasutades ka SPS meetodil puhastatud THF asemel molekulaarsõltel hoitud THF. Korduvuseks saadi 41,2%, mis on statistiliselt ebaoluliselt erinev varasemast tulemusest. See näitab, et vahu meetodi korduvus on olemuslikult kehvem kui prepolümeeri meetodil sõltumata kasutatavast solventidest. Kõiki probleeme arvesse võttes ongi tulemuste korduvus halb, kuna alati pole võimalik tagada kõikide proovide jaoks identseid tingimusi. Kui see meetod oleks mehhaniseeritud ning teostamine toimuks vee- ja hapnikuvaeses keskkonnas, oleksid tulemused kindlasti paremad.



Joonis 6. Vahu ja prepolümeeri meetodi graafiline võrdlus.

3.3 Korratavus

Korratavuse määramiseks kasutati Soudaprep RR 2014-04 proovi. Proovi analüüsiti märtsis ja mais 2015. Selleks kaaluti umbes 0,1 g proovi, mis lahustati THF-s. Lahust kaaluti umbes 0,2 g ja lisati derivatiseerivat reagenti, kokku oli derivatiseeritavat lahust umbes 2 g. Märtsis mõõdetud proovides saadi MDI sisalduseks keskmiselt 3,35%, kaks kuud hiljem 1,62%. Tulemuste kokkulangevus on oodatust kehvem. Tootjad on väitnud, et proovides toimuvad kaks konkureerivat protsessi, ühelt poolt MDI polümeriseerumine ning teisalt polümeeri lagunemine MDI-ks. Tänapäevaks pole teada, kumb protsess on ülekaalus või kas ja milliseid protsesse toimub veel lisaks. Seetõttu on ka korratavuse laborikeskne uurimine raskendatud.

Soudaprepi proovi mõõtmine teostati ka erinevate inimeste poolt, kuid samades laboritingimustes, sama meetodi ja kemikaalidega. Mõõtmised toimusid mõnepäevase vahega mais 2014. MDI sisalduseks saadi 0,83% ja 0,85%. Tulemused on väga lähedased, seega lühikese aja vältel on korratavus hea.

3.4 Laboritevahelised võrdlusmõõtmised

FEICA poolt korraldatud võrdlusmõõtmised toimusid mais 2014, kus kokku oli 7 erinevat proovi ning neid analüüsisid 8 laborit üle Euroopa. Kaks laborit kasutasid kaht erinevat instrumenti ehk kokku mõõdeti kümne meetodiga, milleks olid HPLC/MS/MS, HPLC/UV, GPC

ja HPLC/Fl. Lisaks 4,4'-MDI määrasid osad laborid ka 2,4'-MDI ja 2,2'-MDI ning TDI isomeere 2,4' ja 2,6'. Meie labor määras ainult 4,4'-MDI. Proovid olid nii oma koostise kui ka agregaatoleku poolest väga erinevad. Ühelgi proovil polnud kaasas täpset koostist kirjeldavat informatsiooni, seega koostise kohta ei ole võimalik midagi kindlat väita.

Sika Sample 1 proov oli musta värvi pasta, mille MDI sisalduseks saadi $0,05 \pm 0,01\%$. See on võrreldes teiste sama meetodit kasutavate laboritega palju madalam, kuid standardhälve oli jällegi väiksem. Laborite keskmine MDI sisaldus proovis oli $0,11 \pm 0,08\%$. Proov vajab filtreerimist, kuna sisaldas lahustumatuid tükke, mis ummistasid isegi filtri ning oleksid kindlasti kahjustanud kromatograafi kolonni. Kasutatud filtri suuruseks oli 13 mm, poori suuruseks $0,45 \mu\text{m}$.

Sika Sample 2 polnud võimalik analüüsida, kuna 4,4'-MDI piik polnud maatriksi piikidest korralikult lahutunud ning tulemus oluaks ülehinnatud. Konsistentsilt olid Sika Sample 1 ja 2 väga sarnased.

Bostic Sample 1 MDI sisalduseks saadi $0,01\%$. Tegemist on määramispiiri lähedase sisaldusega. Paljud laborid ei detekteerinud selles proovis üldse MDI-d või said tulemuseks $<0,01\%$, mis ei märgi täpset sisaldust. Keskmiseks sisalduseks üle laborite oli määratud $0,07 \pm 0,08\%$.

Bostic Sample 2 analüüdi detekteeritavusega probleeme ei esinenud—kõik laborid avaldasid oma tulemused. Tulemuste varieeruvus oli väike, proovi tulemustest võib järeldada, et proov koosnes peamiselt 4,4'-MDI-st. Meie laboris tehtud määramise tulemuseks saadi $0,48 \pm 0,05\%$, mis on veidi kõrgem kui keskmine sisaldus. Mõlemad Bostic proovid olid valged pastad ning Sika proovidega sarnase tekstuuriga.

Nii OCF Prepolymer kui Soudaprep RR proovid olid voolavad, liimja tekstuuriga.

Soudaprep RR 2014-04 proovi tulemuste põhjal on võimalik järeldada, et proov koosnes umbes $1/3$ 2,4'-MDI-st ja $2/3$ 4,4'-MDI-st. Meie tulemus oli väiksem kui teistel sama meetodit kasutavatel laboritel ($0,84 \pm 0,07\%$). Teised sama tehnikat kasutavad laborid sai tulemuseks $1,00 \pm 0,03\%$ ja $1,08 \pm 0,02\%$. Võib eeldada, et teised laborid määrasid ka teise isomeeri sisaldust ja seepärast on nende tulemused suuremad.

OCF Prepolymer TDI ja RK2014 proovides polnud võimalik MDI-d määrata. OCF proovis oli 4,4'-MDI piiki allpool meie meetodi detekteerimispiiri. RK2014 proov ei lahustunud THF, sest tegemist oli kõrgtemperatuurse liimiga.

Meetodipõhiselt oli kõige suurem varieeruvus tulemustes GPC kasutades. Tihtipeale oli tulemus kas suurem või väiksem kui keskmiselt saadud sisaldus ja standardhälve. HPLC/FI kasutades saadi kõikide proovide jaoks keskmisest väiksem MDI sisaldus. Kuna selle meetodiga määras ainult üks labor, siis ei ole õige hinnata meetodi usaldusväärsust. Enam-vähem sarnaseid tulemusi andis HPLC/UV ja HPLC/MS kasutamine, mis teeb neist kõige parema kokkulangevusega meetodid. Mõõtmiste korraldaja poolt ei olnud kindlaks määratud tulemuste esitamise vormi, siis võivad olla osad väärtused alahinnatud. Nagu eelnevalt mainitud, siis sisaldasid proovid lisaks 4,4'-MDI ka teisi isomeere, mistõttu võivad tulemused olla esitatud näiteks kõikide isomeeride summana või ainult ühe isomeerina. 2,4' ja 2,2' isomeere pole usaldusväärse puhtusega standardainetena saadaval ning kvantifitseerimine on seetõttu ebatäpne. Kõiki punkte arvesse võttes oleks edaspidiselt võrdlusmõõtmistel parem küsida kõigi isomeeride sisaldusi eraldi.

Tabel 4. Võrdlusmõõtmiste tulemuste koondtabel. Tartu Ülikooli Katsekoda on esindatud Krimelte all.

NA- ei analüüsitud, ND- ei detekteeritud.

	Huntsman	Soudal	Henkel	Henkel	Currenta	ICTPOL	Empa	Sika	ICTPOL	Krimelte	mean	stdev
Analytical technique	GPC	GPC	GPC	HPLC/Fluorescence	HPLC/MS/MS	HPLC/MS/MS	HPLC/MS	HPLC/UV	HPLC/UV	HPLC/UV		
Sika Sample 1	0.20	0.23	0.02	0.03	0.12	0.05	0.09	0.10	0.22	0.05	0.11	0.08
stdev	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01	0.01	0.02	0.01		
Sika Sample 2	0.73	0.94	0.51	0.47	0.89	1.24	0.92	0.81	1.16	NA	0.85	0.26
stdev	0.07	0.01	0.05	0.04	0.06	0.12	0.04	0.02	0.15			
Bostik Sample 1		ND	ND	<0.01	<0.001	ND	<0.01	ND	0.12	0.01	0.07	0.08
stdev									0.01			
Bostik Sample 2	0.43	0.58	0.11	0.10	0.37	0.57	0.27	0.49	0.62	0.48	0.40	0.19
stdev	0.03	0.02	0.00	0.01	0.02	0.02	0.00	0.01	0.04	0.05		
Soudaprep RR 2014-04	0.83	1.24	0.50	0.30	1.17	1.43	1.15	1.00	1.08	0.84	0.95	0.35
stdev	0.02	0.07	0.01	0.04	0.14	0.07	0.02	0.03	0.02	0.07		
OCF Prepolymer TDI	<0.1	ND	ND	<0.01	<0.01	ND	<0.01	<0.01	0.11	ND	0.11	
stdev									0.03			
RK2014	0.22	0.38	0.11	0.06	0.21	0.05	0.24	0.25	0.22	NA	0.19	0.10
stdev	0.02	0.03	0.01	0.02	0.03	0.04	0.02	0.03	0.04			

3.5 Avastamispiir

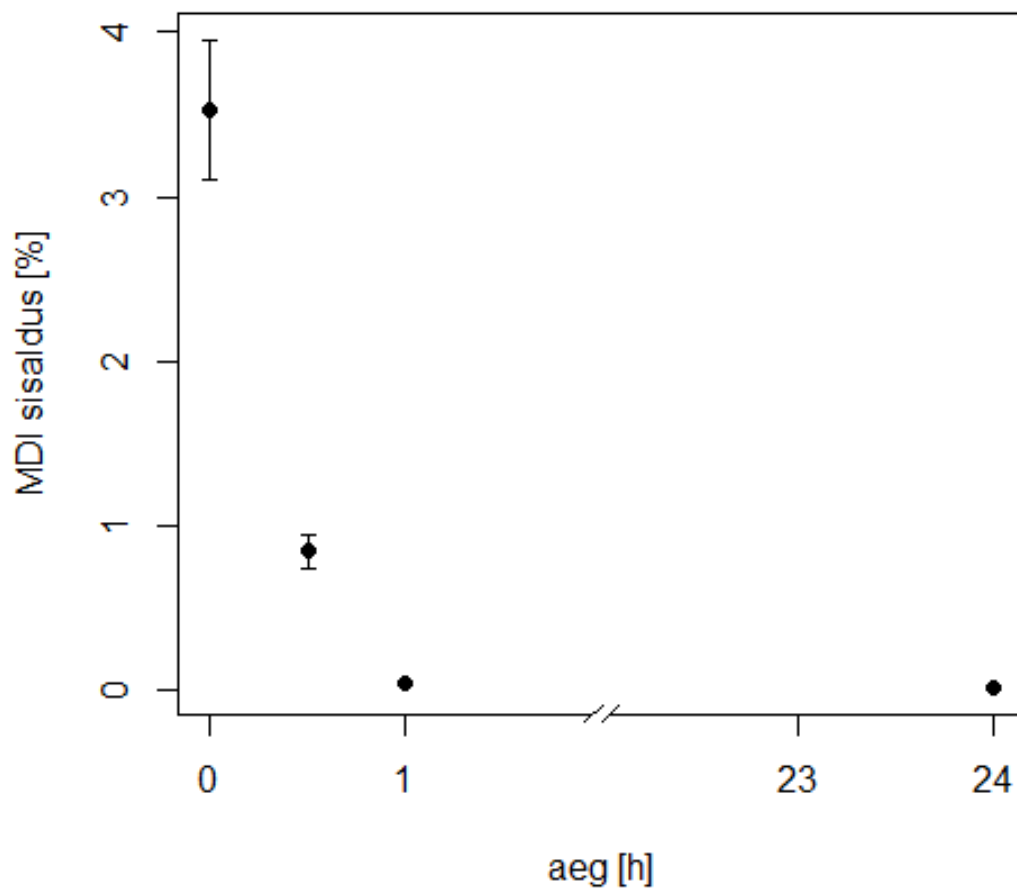
LoD ehk alumine avastamispiir on vähim kontsentratsioon, mida on võimalik veel usaldusväärselt detekteerida. LoD määramine tuleb kindlasti läbi viia reaalsetes proovides, mistõttu pole analüüdivabade proovide puudumisel (nagu käesoleval juhul) võimalik teha täpse kontsentratsiooniga lahuseid. Tulemused saavad olla ainult hinnangulised. Tavaliselt kasutatakse proovide rikastamist ja lahjendamist, kuid käesoleva analüüdi puhul pole see võimalik. Antud töös määrati määramispiiri MDI-ga vahu ja nn vähendatud MDI sisaldusega vahu segamisel erinevates vahekordades, milleks olid 1:10, 1:25, 1:50 ja 1:100. Kõikides segudes oli üks osa MDI-ga vahtu ja ülejäänud osa vähendatud MDI sisaldusega vahtu. Kõik segud derivatiseeriti ja nendest tehti kümne- ja sajakordsed lahjendused. Usaldusväärseks määramispiiriks saadi $1,44 \cdot 10^{-5}$ g/g ($1,44 \cdot 10^{-3}\%$), mis vastab segudest 1:100-le. Sajakordseid lahjendusi instrument enam detekteerida ei suutnud.

3.6 Õhuniiskuse mõju MDI-le

Kirjanduses puuduvad usaldusväärsed andmed MDI ja õhuniiskuse/õhuhapniku vahelise reaktsiooni kiiruse osas. Seetõttu uuriti, kuidas mõjutab proovi kokkupuude õhuga MDI sisaldust proovis. Katses kasutati Soudaprep RR 2014-04 proovi, mis asus kuivkapis. Nelja erinevasse viaali kaaluti umbes ühepalju proovi. Esimeses viaalis olev proov derivatiseeriti koheselt, kolm ülejäänut toodi kuivkapist välja ja jäeti lahtiselt laborisse vastavalt 30 minutiks, 1 tunniks ja 24 tunniks, alles seejärel teostati ülejäänud proovide derivatiseerimine ja vedelik-kromatograafiline analüüs. Ühtegi proovi ei lahustatud eelnevalt. Laboris mõõdetud õhuniiskuse oli 42,4%.

Koheselt derivatiseeritud proovi MDI massiprotsent oli 3,53%, 30 minuti pärast derivatiseeritud proovis 0,85%, 1 tunni pärast derivatiseeritud proovis 0,04% ja 24 tunni pärast derivatiseeritud proovis 0,02%. 24 tundi seisunud proovi lahustumisega oli probleeme, samuti oli pärast analüüsi MDI piik väga väike, kuna MDI oli kas ära reageerinud vee ja hapnikuga või polümeriseerunud. Mida kauem on MDI-l kokkupuude õhuga, seda vähem on proovis MDI-d alles. Piisas juba poolest tunnist, et kontsentratsioon väheneks neli korda, mis näitab, et analüüdi väiksemgi kokkupuude hapniku ja veega vähendab MDI sisaldust oluliselt. Sellest seisukohast on suureks probleemiks, et kõiki proove pole alati võimalik käidelda kuivkapis.

Joonis 7. MDI kontsentratsiooni muutus õhuniiskuse mõjul. Veavälbad on arvutatud kasutades meetodi korduvust (ühekordset suhtelist standardhälvet) ja saadud tulemust.



Kokkuvõte

Antud töö eesmärgiks oli määrata MDI kontsentratsioon HPLC/UV meetodiga erinevates ehitusvahetude proovides, kasutades Soudali poolt väljaantud soovituslikku juhendit ja uurida lahustumist erinevates solventides. Meetodi sobilikkus kontrolliti valideerimisel.

Standardainete lahustamiseks katsetati kolme erinevat lahustit (molekulaarsõltel olevat THF, SPS meetodil puhastatud THF ja DCM), kus kõige stabiilsemaid tulemusi andis SPS meetodil puhastatud THF, mille veesisaldus oli väiksem kui molekulaarsõltel oleval THF-l. DCM-s lahustus aine isegi visuaalsel vaatlusel halvasti.

Valideerimise käigus määrati lineaarsus, LoD, korduvus, korratavus ja osaleti laboritevahelisel võrdlusmõõtmisel. Korduvust uuriti vahu ja prepolümeeri meetodil, millest paremaid tulemusi andis prepolümeeri meetod. Vahu meetodi korral oli tulemuse määramatus väga suur peamiselt kiiresti auruva solvendi tõttu. Proovide korratavus lühikese ajavahemiku vältel oli hea. Pikemaajalist korratavust polnud võimalik usaldusväärselt uurida kuna pole täpselt teada, mis protsessid proovidega toimuvad, samuti pole neid võimalik ka vältida ega ennetada. LoD väärtuseks saadi $1,44 \cdot 10^{-3}\%$. Võrdlusmõõtmiste käigus tuli määrata MDI kontsentratsioon kokku 7 proovis. Kuna proovid varieerusid nii tekstuurilt kui koostiselt, siis oleks tarvis iga proovi jaoks meetodit optimeerida. Meie labor määras kõiki proove ühe meetodiga ja seetõttu polnud võimalik kõiki proove analüüsida või detekteerida.

MDI on varasemalt uuritud peamiselt inimese tervise seisukohast, hinnates kahjulikke riske, kuid analüüsimeetodeid on välja töötatud väga vähe ja osad on salastatud tootjate poolt. Töö edasiseks arenguks Tartu Ülikooli Katsekojas võiks kindlasti välja töötada uusi proovi ettevalmistuse meetodeid just erineva tekstuuriga proovide analüüsiks, et olla konkurentsivõimelisemad teiste laboritega.

Summary

Determination of MDI with HPLC/UV in polyurethane foams

Methylene diphenyl diisocyanate (MDI) is a compound of polyurethane foams. Polyurethane foams are mainly used in construction for installing doors and windows. MDI is a hazardous compound and in daily contact has been shown to lead to asthma, bronchitis or even mutations because isocyanates form complexes with proteins and DNA. Therefore it is necessary to determine the exact concentration of MDI in foams and other materials. Manufacturers have also developed so called green foams which contain „99% less MDI“. Although there are a lot of papers written about MDI only a few are about its analysis, most of them describe the harmful effects for human health.

The aim of this work was to develop a method determination of MDI concentration in different samples, also to modify two unofficial sample preparation methods, compare the reference sample solubility in different solvents and finally validate the method. All experiments were conducted in the Testing Centre of University of Tartu and measured with HPLC/UV instrument.

The manufacturer Soudal has developed a prepolymer and a foam sample preparation method. In the prepolymer method, the foam is inserted in a can and degassed but in the foam method the foam is dissolved in a flask filled with solvent. The prepolymer method shows better results and has smaller uncertainty. To determine solubility in different solvents three solvents were compared: SPS purified tetrahydrofuran (THF), THF over molecular sieves and dichloromethane (DCM). For this method the best choice was SPS purified THF. During validation of the method a interlaboratory comparison (Round Robin Test) was conducted and the limit of detection (LoD), repeatability and reproducibility were measured in our own laboratory. The repeatability was good but repetitiveness over a long period of time was unsatisfactory. This may be caused by unknown reactions taking place in the sample.

In the future it is necessary to further improve the method developed in this work so that would be more robust (fit for more sample types) and higher selectivity.

Kasutatud kirjanduse loetelu

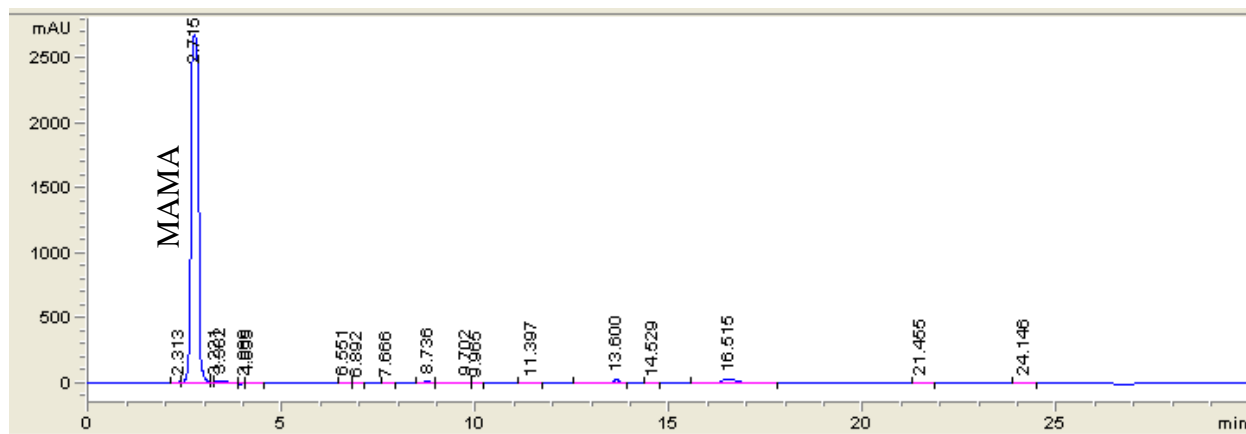
1. Concise International Chemical Assessment Document 27. Diphenylmethane Diisocyanate (MDI) World Health Organization, Geneva, 2000.
2. BASF. Product Safety Summary Diphenylmethane Diisocyanate, 2007.
3. Schulz, M; Salthammer, T. Sensitive determination of airborne diisocyanates by HPLC: 4,4'-Diphenylmethane-diisocyanate(MDI). *J. Anal. Chem.* **1998**, 362, 3, 289-293.
4. Six, C.; Richter, F. Isocyanates, Organic. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim: Wiley-VCH, 2005, pp 63-80.
5. Smith, A. K.; Goddard, R. J.; Paulsen, E. J. L., MDI-based polyurethane prepolymer with low monomeric MDI content, US6884904 B2, 2005.
6. Gurke, T. New Advances in Polymeric MDI Variants, Eurocoat 2002, Barcelona, Hispaania, 2002.
7. Raulf-Heimsoth, M.; Baur, X. Pathomechanisms and Pathophysiology of Isocyanate-Induced Diseases — Summary of Present Knowledge. *Am. J. Ind. Med.* **1999**, 34, 137–143.
8. Schaeffer, J. W; Sargent, L. M; Sandfort, D. R. A Comparison of two sampling methods for the detection of airborne methylene bisphenyl diisocyanate. *J. Occup. Environ. Hyg.* **2013**, 10, 4, 213-221.
9. Adegoke, O. A. An overview of applications of pre-column derivatization reactions for the liquid chromatographic analysis of pharmaceuticals and other compounds. *Afr. J. Pure Appl. Chem.* **2012**, 6, 14, 129-140.
10. Humberto, E. F; Jose, A. D. C; Ines, O. F; David, E. D; Joao C. M. B. HPLC-UV and HPLC-ESI+-MS/MS analysis of free monomeric methylene diphenyl diisocyanate in polyurethane foams and prepolymers after stabilization with NBMA a new derivatizing agent. *Roy. Soc. Ch.* **2014**, 6, 23, 9242-9257.

11. Magnusson, B.; Örnemark, U. (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Saadaval www.eurachem.org.
12. Thompson, M.; Ellison, S. L. R.; Wood, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC). *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 5, 835–855.
13. International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM), JCGM: 2012.
14. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement, JCGM 100: 2008.
15. Reichenbacher, M; Einax, J. W. *Challenges in Analytical Quality Assurance*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 2011, pp 305-306.
16. Skoog, D. A.; Holler, F. J; Crouch, S. R. *Principles of Instrumental Analysis*. Thomson Brooks/Cole. USA, 2007, pp 356; 816-818.
- 17 *Sampling methods for OCF*, Soudal, konfidentsiaalne materjal, 2013.

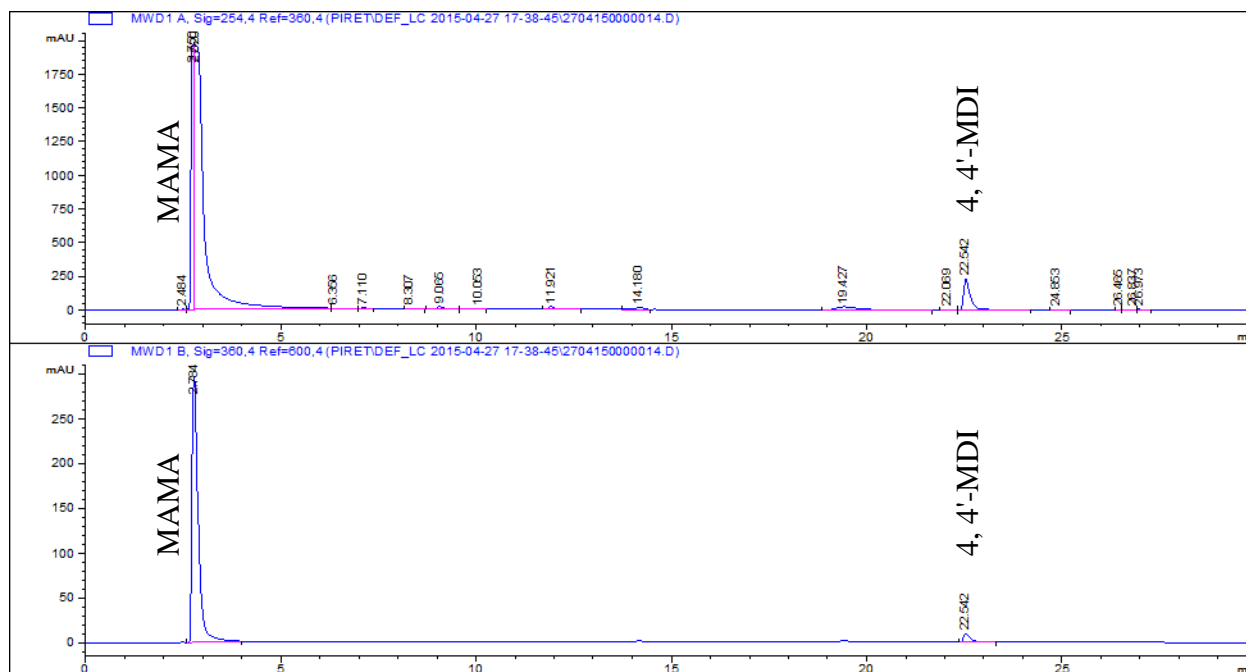
Lisa

Käesolevas töös uuritud standardained ja valik proovide kromatogramme.

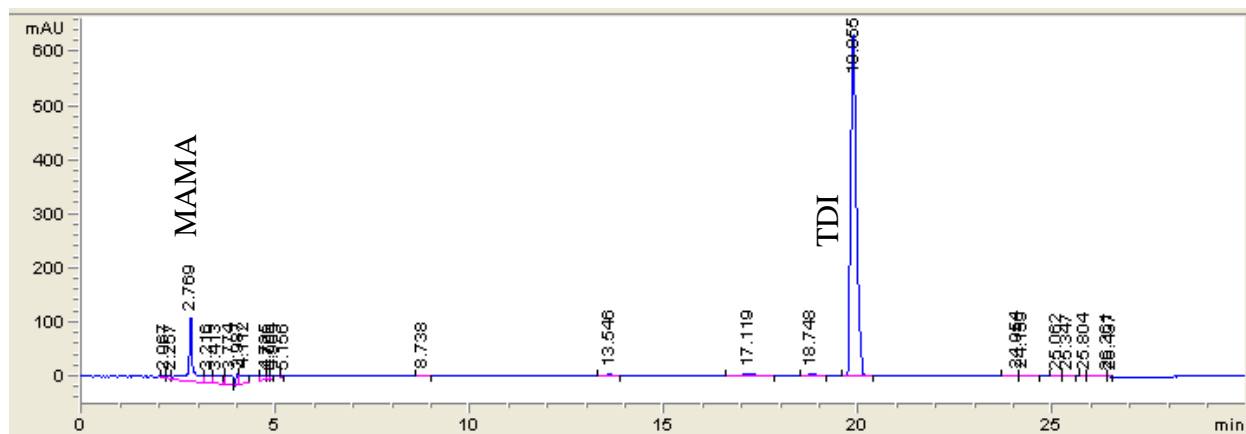
Joonis L1. MAMA piik mõõdetud 360 nm juures.



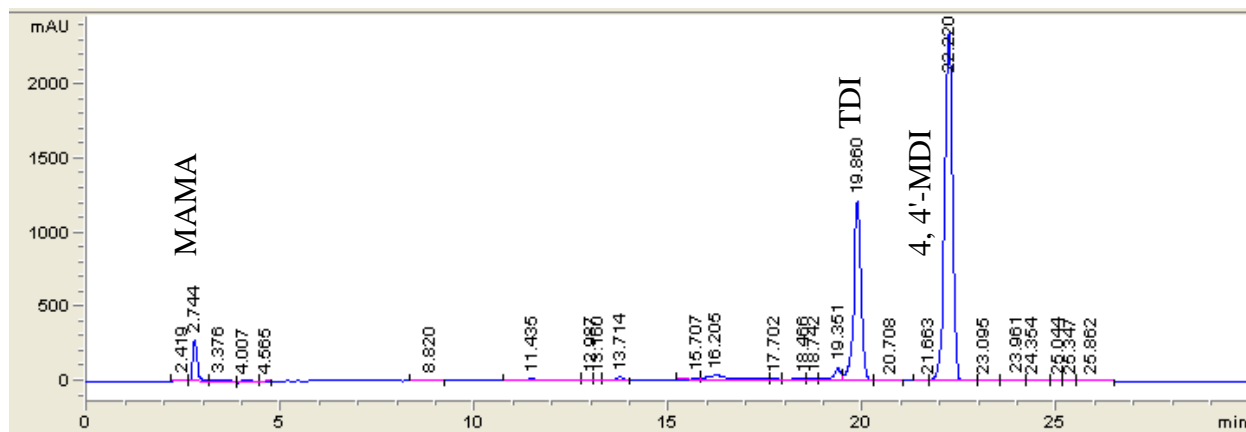
Joonis L2. MDI ja MAMA piigid 254 ja 360 nm juures.



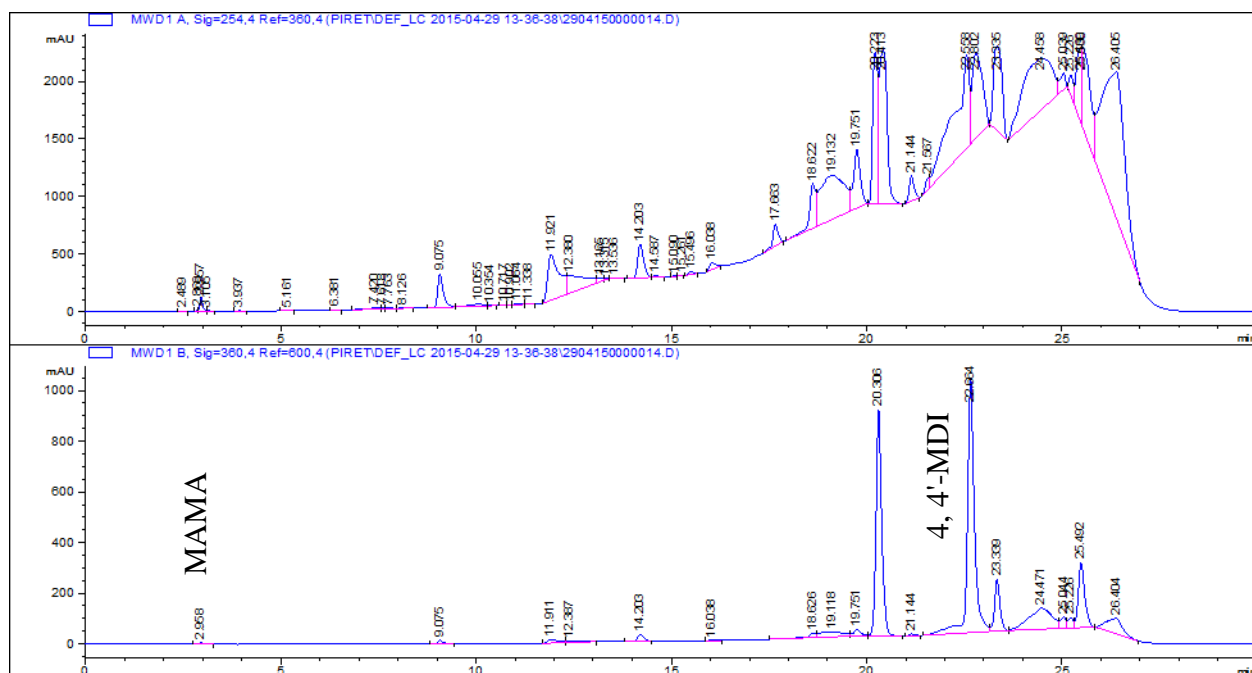
Joonis L3. TDI 360 nm.



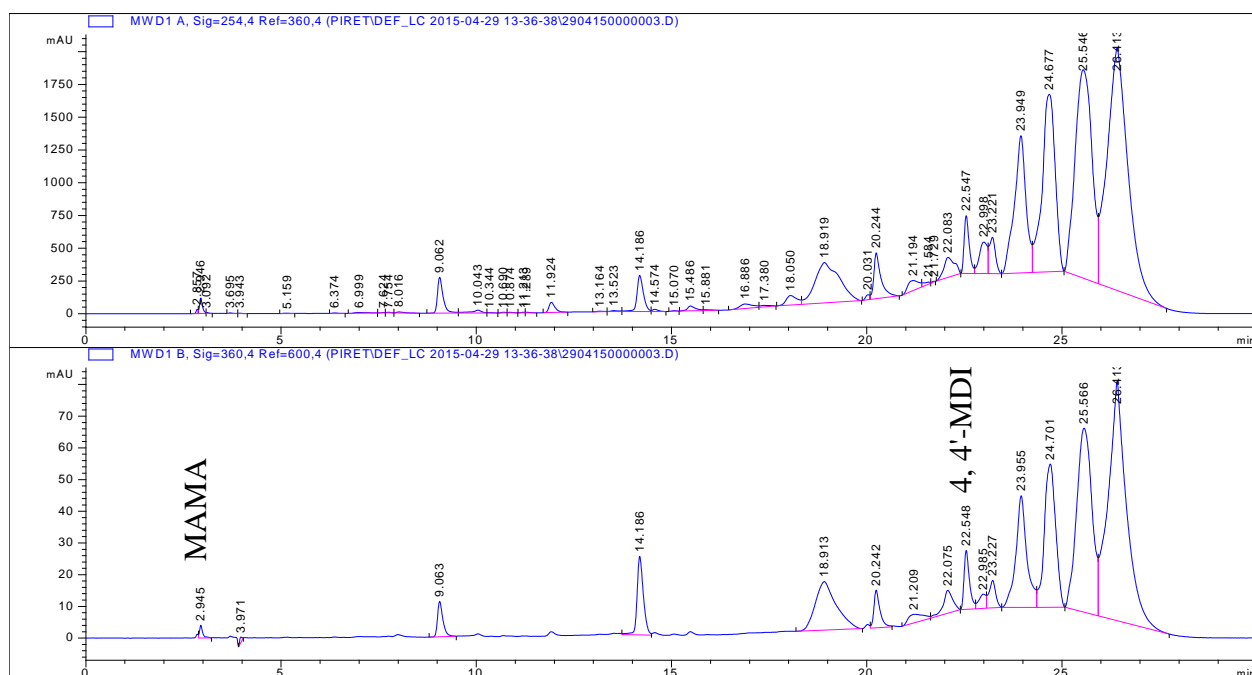
Joonis L4. 4, 4'-MDI ja TDI segu 360 nm.



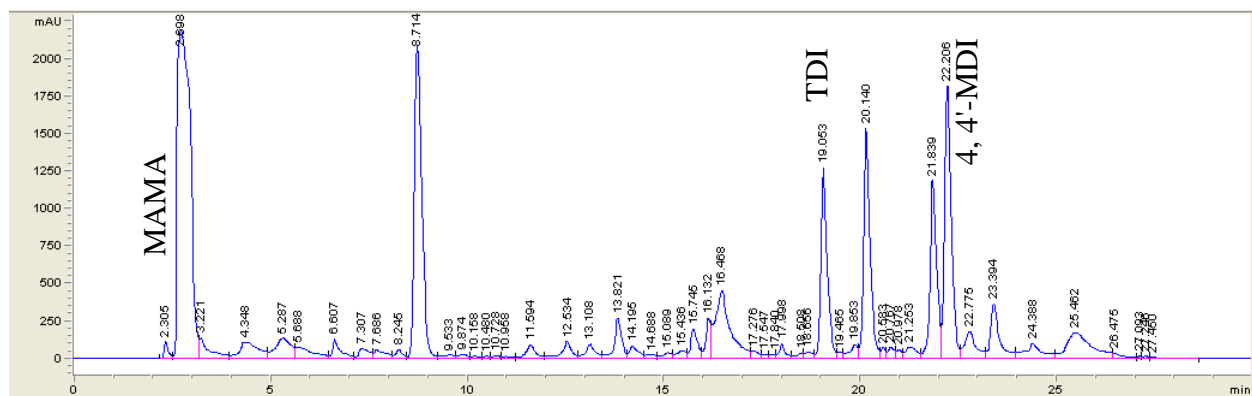
Joonis L5. Penosil Premium Foam, 254 ja 360 nm.



Joonis L6. Makroflex vaht, 254 nm ja 360 nm.



Joonis L7. Sika Sample 1, 254 nm.



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, _____Piret Selli_____,
(*autori nimi*)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose
_____MDI määramine ehitusvahtudes HPLC/UV meetodiga
(*lõputöö pealkiri*)

mille juhendaja on _____Anneli Kruve_____,
(*juhendaja nimi*)

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
- 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus/Tallinnas/Narvas/Pärnus/Viljandis, **27.05.2015**